

## همراهی پلی مورفیسم ژن های KIR با خطر ابتلا به بیماری دیابت نوع یک: یک مرور نظامند و متآنالیز

سعید اصلانی<sup>۱</sup>، شایان مصطفایی<sup>۱،۲\*</sup>، سمانه سلطانی<sup>۱</sup>، الهام فرهادی<sup>۱</sup>، مهدی محمودی<sup>۱\*</sup>

### چکیده

**مقدمه:** نقش پلی مورفیسم ژن های گیرنده ی شبه ایمونوگلوبولینی (KIR) در بروز دیابت نوع یک (T1D) در بسیاری از مطالعات بررسی شده و نتایج متفاوتی مشاهده شده است. هدف از انجام این متآنالیز بررسی نتایج مطالعات قبلی و ارزیابی ارتباط بین پلی مورفیسم های ژن های KIR و خطر ابتلا به T1D است.

**روش ها:** پایگاه های اطلاعاتی پابمد/مدلاین و اسکوپوس برای انتخاب مطالعات مبتنی بر تأثیر پلی مورفیسم ژن های KIR بر استعداد ابتلا به T1D تا نوامبر سال ۲۰۱۹ به طور سیستماتیک مورد بررسی قرار گرفتند. پس از مرور نظامند سیزده مقاله منتشر شده مورد-شاهدی شامل ۲۲۸۵ بیمار و ۲۱۱۸ کنترل وارد متآنالیز شدند. اندازه ی اثر ارتباط، نسبت شانس (OR) با فاصله ی اطمینان ۹۵ درصد (CI) در نظر گرفته شد. ناهمگونی نسبت شانس در بین مطالعات پیشین با استفاده از آزمون Q کوکران و شاخص مجذور I و ارزیابی سوگیری مطالعه از طریق آزمون های ایگر و بگ انجام گرفت. یافته ها: نتایج این متآنالیز ارتباط آماری معناداری را بین پلی مورفیسم های KIR2DL1 (OR = 0.42, 95% CI = 0.23-0.77; P = 0.005) و KIR2DL2 (OR = 1.15, 95% CI = 1.00-1.32; P = 0.048) و KIR2DL5 (OR = 0.86, 95% CI = 0.75-0.98; P = 0.03) با استعداد ابتلا به T1D نشان داد. نتیجه گیری: براساس نتایج این مطالعه ژن های KIR2DL1 و KIR2DL5 ممکن است به عنوان ژن های محافظتی در برابر T1D در نظر گرفته شوند، در حالی که به نظر می رسد KIR2DL2 یک عامل مستعدکننده برای این بیماری است.

**واژگان کلیدی:** دیابت نوع یک، پلی مورفیسم، ژن های KIR، متآنالیز

۱- مرکز تحقیقات روماتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۲- مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، پژوهشکده ی فناوری سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

\***نشانی:** کرمانشاه، بلوار طاقبستان، باغ ابریشم، دانشگاه علوم پزشکی، مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، پژوهشکده ی فناوری سلامت، صندوق

پستی: ۶۷۱۵۵-۱۶۱۶، پست الکترونیک: shayan.mostafaei@kums.ac.ir

\***نشانی:** تهران، خیابان کارگر شمالی، بیمارستان شریعتی، مرکز تحقیقات روماتولوژی، صندوق پستی: ۱۴۱۱۷۱۳۱۳۷، تلفکس: ۰۰۲۱-۸۸۲۲۰۰۶۷،

پست الکترونیک: mahmoudim@tums.ac.ir

## مقدمه

بیماری دیابت نوع یک<sup>۱</sup> (T1D)، که به عنوان دیابت وابسته به انسولین<sup>۲</sup> (IDDM) نیز شناخته می شود، یک بیماری پلی ژنتیکی خود ایمنی با واسطه سلول های T است که در آن سلول های بتای تولید کننده انسولین توسط سیستم ایمنی بدن مورد حمله قرار می گیرند [۱]. T1D یک بیماری تهدید کننده سلامتی است و یکی از علل مرگ و میر در نوجوانان و بزرگسالان محسوب می شود [۲]. تا به امروز، علت و سازوکار بیماری زایی T1D مشخص نشده است، اما براساس مطالعات انجام شده، فاکتورهای ژنتیکی و محیطی در بروز بیماری دخیل هستند [۳]. با وجود اینکه بیماری های خود ایمنی در درجه اول ناشی از فعال شدن نامناسب لئوسیت های T و B هستند، سلول های کشته شده طبیعی<sup>۳</sup> (NK) نیز نقش مهمی در پاتوژنز چنین بیماری هایی دارند [۴]. سلول های NK هم تنظیم کننده و هم محرک مهمی در بیماری های اتوایمیون هستند و برخی مطالعات مختل شدن سلول های NK را در موش های دیابتی غیر چاق<sup>۴</sup> (NOD) در مقایسه با موش های نرمال نشان داده اند [۵].

سلول های NK نقش مهمی در مبارزه با پاتوژن های انگلی، عفونی و باکتریایی از طریق کشتن مستقیم عوامل عفونی و تولید سایتوکاین های پیش التهابی نظیر اینترفرون گاما<sup>۵</sup> (IFN- $\gamma$ ) و فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا<sup>۶</sup> (TNF- $\alpha$ ) دارند [۶]. گیرنده های شبه ایمونوگلوبولینی سلول کشته کننده<sup>۷</sup> (KIR) عمدتاً بر روی سلول های NK انسانی و گروه کوچکی از سلول های T بیان می شوند، و عملکردهای سلول های NK و T را از طریق اتصال به آنتی ژن لوکوسیت انسانی کلاس I<sup>۸</sup> (HLA-I) واقع بر سلول های هدف تنظیم می کنند [۷]. در انسان، KIR ها متعلق به ابرخانواده ایمونوگلوبولین هستند و توسط ۱۷ ژن مختلف با اندازه تقریبی ۱۵۰

کیلوباز، در ناحیه ی ژنی 19q13.4 کد می شوند، و شامل KIR2DL1-4، KIR3DL1-3، KIR2DS1-5، KIR2DL5B، KIR2DL5A، KIR3DS1 و ۲ سودوژن<sup>۹</sup> (KIR3DP1 و KIR2DP1) هستند. گیرنده های KIR براساس تعداد دومن های شبه ایمونوگلوبولینی خارج سلولی (2D or 3D) و داشتن دم سیتوپلاسمی بلند<sup>۱۰</sup> (L) یا کوتاه<sup>۱۱</sup> (S) طبقه بندی می شوند. ۹ ژن KIR شامل KIR2DL1-3، KIR2DL5A، 2DL5B، و KIR3DL1-3 های مهارتی را کد می کنند که دارای دم سیتوپلاسمی بلند بوده و از طریق موتیف مهارتی ایمونورسپتور بر پایه تیروزین<sup>۱۲</sup> (ITIM) سیگنال را انتقال می دهند. در طرف مقابل، ۶ ژن KIR از جمله KIR2DS1-5 و KIR3DS1، KIR های فعال کننده را کد می کنند که دم سیتوپلاسمی کوتاهی دارند [۸]. سیگنال های تحریکی از طریق مولکول آداپتوری موسوم به DAP12<sup>۱۳</sup> که دارای موتیف فعال کننده ایمونورسپتور بر پایه تیروزین<sup>۱۴</sup> (ITAM) است، انتقال می یابند [۹]. در این میان، KIR2DL4 که دم سیتوپلاسمی بلند دارد، دارای هر دوی فعالیت تحریکی و مهارتی است [۱۰].

عملکرد سلول های NK به واسطه ی یک تعادل دقیق بین سیگنال های فعال کننده و مهارتی کنترل می شود. این سیگنال ها ناشی از تعامل KIR های سطح سلول با لیگاندهای HLA مشخصی هستند که بر روی سلول های هدف بیان می شوند [۷]. به عنوان مثال، گیرنده های مهارتی KIR2DL2/2DL3 با HLA-C1، و گیرنده ی مهارتی 2DL1 با لیگاند HLA-C2 میانکنش می دهند [۱۱]. از طرف دیگر، گیرنده ی فعال کننده ی 2DS1 به HLA-C2 و گیرنده ی فعال کننده ی 2DS2 به HLA-C1 متصل می شود [۱۲]. با توجه به پاتوژنز T1D، فعال شدن همزمان KIR های فعال کننده و اختلال عملکرد KIR های مهارتی در تنظیم سلول های خودواکنشگر، می تواند منجر به فعال شدن این سلول ها و شکسته شدن تحمل نسبت به آنتی ژن های جزایر

<sup>1</sup> Type 1 diabetes

<sup>2</sup> Insulin dependent diabetes mellitus

<sup>3</sup> Natural Killer

<sup>4</sup> Non Obese diabetic mice

<sup>5</sup> Interferon (IFN)- $\gamma$

<sup>6</sup> Tumor necrosis factor- $\alpha$

<sup>7</sup> Killer-cell immunoglobulin-like receptors

<sup>8</sup> Human leukocyte antigen class I

<sup>9</sup> Pseudogenes

<sup>10</sup> Long

<sup>11</sup> Short

<sup>12</sup> Immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif

<sup>13</sup> DNAX activation protein of 12 kDa

<sup>14</sup> Immunoreceptor tyrosine-based activation motif

## روش‌ها

### منابع الکترونیکی و راهبرد جستجو

با هدف جستجوی نظامند به شناسایی و بررسی مطالعات پیشین به منظور ارزیابی ارتباط بین پلی‌مورفیسم ژن‌های *KIR* و T1D پرداخته شد. پایگاه‌های اطلاعاتی الکترونیکی، از جمله پابمد/مدلاین<sup>۸</sup> و اسکوپوس<sup>۹</sup> برای جستجوی کلیه مقالات چاپ شده و منتشر شده به زبان انگلیسی، با استفاده از ترکیب کلمات کلیدی: ("KIR" یا "Killer Cell Immunoglobulin-like Receptor") و ("T1D" یا "Type 1 Diabetes Mellitus") با عملگرهای بولینگ در قسمت عنوان/چکیده/کلید واژه‌های مقالات انجام شد. به علاوه، به منظور پیدا کردن مطالعاتی که در پایگاه داده‌های الکترونیکی نمایه نشده‌اند، تمامی منابع ذکر شده در مقالات شناسایی شده و بررسی شدند و برای بررسی مقالات خاکستری نیز پایگاه اطلاعاتی پروکوئست<sup>۱۰</sup> بررسی شد.

### معیارهای ورود و خروج مطالعات

معیارهای ورود مطالعات عبارتند از: (۱) مطالعات مورد-شاهدی باشد، (۲) مطالعات در زمینه‌ی ارتباط بین پلی‌مورفیسم ژن‌های *KIR* و استعداد ابتلا بیماری T1D باشد، (۳) داده‌ها در هر مطالعه منحصر بفرد (مستقل در بین مطالعات) باشد، (۴) داشتن داده‌های فراوانی برای محاسبه نسبت شانس (OR) با فاصله اطمینان ۹۵ درصد (95% CI)، (۵) بیماران مبتلا به T1D براساس معیار طبقه‌بندی تشخیص داده شده باشند. همچنین مطالعات با مشخصات زیر حذف شدند: (۱) مطالعاتی که دارای داده‌های تکراری یا همپوشانی<sup>۱۱</sup> بودند، (۲) کنفرانس، نامه، مطالعه‌ی مروری، تفسیرها، دستورالعمل‌ها یا چکیده‌ی بدون متن کامل و (۳) مطالعاتی که فاقد داده‌های کافی از نظر فراوانی پلی‌مورفیسم ژن‌های *KIR* بودند (شکل ۱).

لانگرهانس شود [۱۳]. از نظر محتوای ژنی، *KIR* ها در بین جمعیت‌ها تنوع زیادی دارند [۱۴]. ارتباط پلی‌مورفیسم ژن‌های *KIR* با چندین بیماری خودایمنی از جمله آرتریت پسوریازیس<sup>۱</sup> (PsA) [۱۵]، پسوریازیس<sup>۲</sup> [۱۶]، آرتریت روماتوئید<sup>۳</sup> (RA) [۱۷]، اسکلرودرما<sup>۴</sup> (SSc) [۱۸]، اندومتریوز<sup>۵</sup> [۱۹]، کولانژیت اسکلروزان اولیه [۲۰] و لوپوس اریتماتوز سیستمیک<sup>۶</sup> (SLE) [۸] بررسی و مشخص شده است. علاوه بر این، مطالعات متعددی ارتباط بین ژن‌های *KIR* و بیماری‌های عفونی [۲۱، ۲۲]، سرطان‌ها [۲۳، ۲۴] و اختلالات سیستم تولید مثل [۲۵، ۲۶] را نشان داده‌اند. همچنین، پلی‌مورفیسم‌های ژن‌های *KIR* به‌عنوان عوامل خطر مهم در ابتلا به T1D شناخته شده است [۲۷، ۲۸]. غربالگری ژنتیکی نخستین گام منطقی برای تشخیص بیماران مبتلا به T1D برای دستیابی به یک درمان یا راهکار پیشگیری است. در سال‌های اخیر، شواهد فراوانی از نقش مهم ژن‌های *KIR* در بیماری‌های خود ایمنی حمایت می‌کند. تاکنون، ۱۳ مطالعه‌ی ژنتیکی وجود ارتباط بین پلی‌مورفیسم ژن‌های *KIR* و استعداد افراد به T1D را بررسی کرده‌اند، اما نتیجه‌ی این یافته‌ها با هم در تناقض بوده‌اند. این مسأله به احتمال زیاد به دلیل پایین بودن قدرت آماری، تعداد محدود نمونه‌ها، و تنوع جمعیت‌های مورد مطالعه بوده است. بنابراین، به نظر می‌آید که مطالعات انجام شده برای دستیابی به درک جامع در مورد نقش توزیع آلی *KIR*‌ها در استعداد ابتلا به T1D، نیاز به یک تحلیل بیشتر دارد. متآنالیز ابزاری مؤثر برای خلاصه کردن نتایج مطالعات مختلف در یک زمینه‌ی مشابه و بررسی روابط آنها به صورت جامع است [۲۵]. این نوع از مطالعات اندازه‌ی نمونه را افزایش می‌دهند که ممکن است مسأله‌ی کمبود قدرت<sup>۷</sup> آماری را برطرف سازد، و این دلالت بر مزیت اصلی مطالعات متآنالیز دارد. مطالعه‌ی متآنالیز حاضر به بررسی ارتباط میان پلی‌مورفیسم ژن‌های *KIR* با استعداد ابتلا و بروز T1D در جمعیت‌های مختلف می‌پردازد.

<sup>1</sup> Arthritis psoriatic

<sup>2</sup> Psoriasis

<sup>3</sup> Rheumatoid arthritis

<sup>4</sup> Scleroderma

<sup>5</sup> Endometriosis

<sup>6</sup> Systemic lupus erythematosus

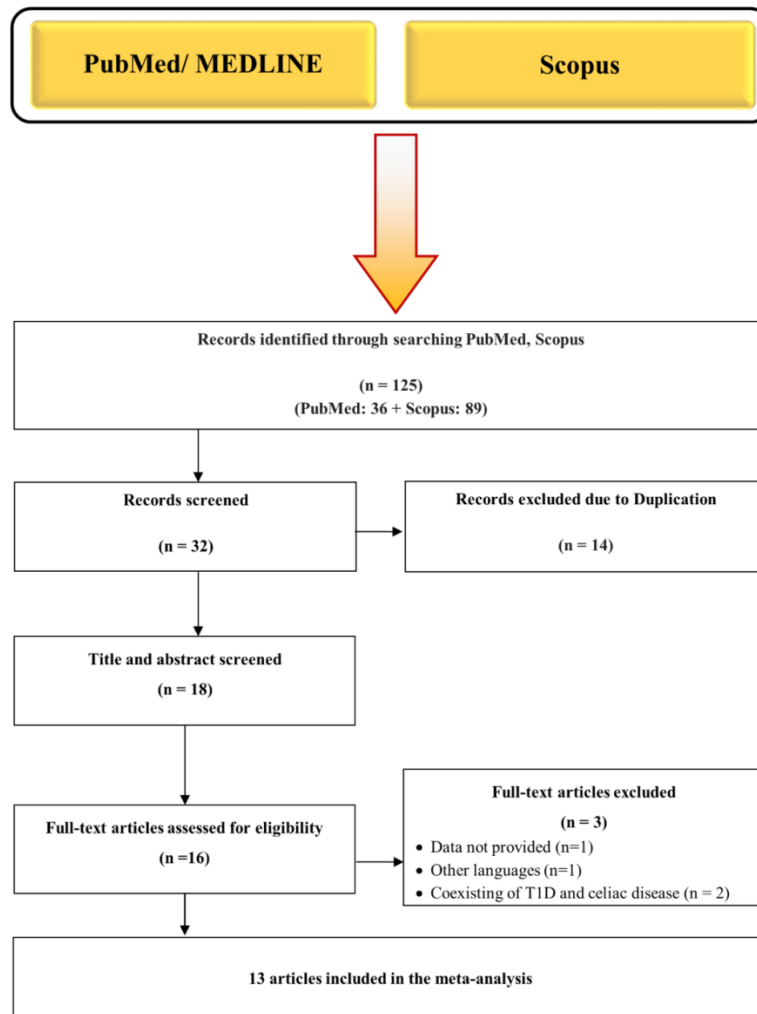
<sup>7</sup> Power

<sup>8</sup> PubMed/MEDLINE

<sup>9</sup> Scopus

<sup>10</sup> ProQuest

<sup>11</sup> Overlapping



شکل ۱- فلوجارت روش جستجو و انتخاب مطالعه برای متاآنالیز

گونه اختلاف و تفاوت، مطالعات را بر اساس معیارهای ذکر شده در بالا بررسی کردند. نتایج نمره‌دهی مقیاس NOS حاکی از آن بود که برای کلیه مقالات مورد مطالعه، این مقیاس بیش از ۶ بود.

### روش‌های تحلیل آماری

از نسبت شانس (OR) و فاصله اطمینان CI 95% به منظور ارزیابی ارتباط پلی مورفیسم ژن‌های KIR و خطر ابتلا به T1D استفاده شد. برای محاسبه‌ی فراوانی فنوتیپی<sup>۲</sup> (pf %) در هر گروه، از درصد اعداد مثبت بین کلیه نمونه‌ها، و برای محاسبه فراوانی ژنوتیپی<sup>۳</sup> (gf) در

### استخراج داده‌ها و ارزیابی کیفیت آنها

در هر مطالعه‌ی انتخاب شده، اطلاعاتی چون نام خانوادگی نویسنده، سال انتشار، کشور مبدا، قومیت جمعیت مورد مطالعه، تعداد افراد بیمار و افراد کنترل، روش تایپینگ ژن‌های KIR و داده‌های مربوط به فراوانی ژنوتیپ‌ها در پلی مورفیسم ژن‌های KIR استخراج شدند. برای ارزیابی کیفیت متدولوژی مقالات، از مقیاس نیوکاسل-اتاوا<sup>۱</sup> (NOS) استفاده شد [۲۹]. براساس امتیازات ۰-۳، ۶-۷ یا ۸-۹، مطالعات از لحاظ کیفیت به ترتیب به صورت کیفیت پایین، متوسط و یا کیفیت بالا طبقه بندی شدند. دو محقق به صورت مستقل، برای برطرف کردن هر

<sup>2</sup> Phenotypic frequency

<sup>3</sup> Genotypic frequency

<sup>1</sup> Newcastle-Ottawa Scale

مطالعه در جمعیت آسیایی [۴۱-۳۹، ۷، ۱] و یک مطالعه در جمعیت برزیلی [۴۲] انجام شده بود. این مطالعات بین سال‌های ۲۰۰۲ تا ۲۰۱۶ به زبان انگلیسی منتشر شده بودند (جدول ۱). دو نوع واکنش زنجیره‌ای پلیمرز<sup>۱۲</sup> (PCR)، شامل<sup>۱۳</sup> SSP-PCR و<sup>۱۴</sup> SSOP-PCR روش‌های اصلی تشخیصی بودند که توسط مطالعات وارد شده در متآنالیز حاضر مورد استفاده قرار گرفته بودند. شانزده پلی مورفیسم ژنی *KIR* در مطالعات ذکر شده شامل *2DL1-3*، *2DL1-5*، *2DS1-5*، *3DS1*، *3DPI* و *3DPI* مورد بررسی قرار گرفته بودند. فلوچارت مراحل انتخاب مطالعات در متآنالیز در شکل ۱ خلاصه شده است. براساس مقیاس NOS، میانگین نمره‌ی آنها ۷ با رنج ۶-۹ بود. به‌علاوه ویژگی‌های مطالعات منتخب در جدول ۱ ذکر شده است.

### نتایج متآنالیز

نتایج متآنالیز منجر به شناسایی سه ژن *KIR* با ارتباط معنی داری با استعداد ابتلا به T1D شد. این پلی مورفیسم‌ها شامل *KIR2DL1* (OR= 0.42, 95% CI= 0.23-0.77; P= 0.005)، *KIR2DL2* (OR=1.15, 95% CI= 1.00-1.32; P=0.048) و *KIR2DL5* (OR=0.86, 95% CI= 0.75-0.98; P=0.033) بود (شکل ۲). اما هیچ ارتباط آماری معنی‌داری بین *2DL4*، *2DL3*، *3DPI* و *3DS1*، استعداد ابتلا به T1D مشاهده نشد. جزئیات مربوط به فراوانی آلی پلی مورفیسم ژن‌های *KIR*، نتایج آزمون هتروژنی و نتایج آزمون سوگیری مطالعه در جدول ۲ ارائه شده‌اند.

### آنالیز حساسیت

آنالیز حساسیت از طریق حذف متوالی هر یک از مطالعات انجام شد. نسبت شانس (OR) ادغام شده، بعد از حذف هر یک از مطالعات، به‌طور معنی‌داری از حذف متوالی منحرف نشد که نشان می‌داد که نتایج از لحاظ آماری قوی بوده‌اند.

بین همه افراد، از فرمول  $gf = 1 - (1 - pf)^{1/2}$  استفاده شد. برای ارزیابی ناهمگونی<sup>۱</sup> از آزمون Q کوکران<sup>۲</sup> و برای محاسبه‌ی ناهمگونی نسبت شانس بین مطالعات وارد شده از شاخص مجذور I استفاده شد. برای بررسی ناهمگونی، سطح معنی‌داری به‌صورت  $P < 0.1$  در نظر گرفته شد [۳۰]. زمانی که ناهمگونی بین مطالعات از نظر آماری معنی‌دار بود از مدل اثرات تصادفی<sup>۳</sup> در متآنالیز استفاده شد. در غیر این صورت از مدل اثرات ثابت<sup>۴</sup> استفاده شد. همچنین، تحلیل حساسیت با استفاده از حذف پیاپی یک مطالعه ویژه یا گروهی از مطالعات (در صورت وجود)، که بیشترین تأثیر را در نتایج ناهمگونی داشتند، انجام شد. نمودار قیفی<sup>۵</sup> به‌عنوان روشی برای کنترل کردن سوگیری انتشار به‌کار رفت. آزمون رگرسیون خطی ایگر<sup>۶</sup> و آزمون بگر<sup>۷</sup> برای اندازه‌گیری عدم تقارن<sup>۸</sup> نمودار قیفی و آزمون سوگیری انتشار، استفاده شدند [۳۱]. تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری استاتا<sup>۹</sup> (نسخه‌ی ۱۱،۰؛ شرکت استاتا، کالج استیشن، TX) و مدکالک<sup>۱۰</sup> (نسخه‌ی ۱۲،۷،۲،۰؛ اوستند، بلژیک) انجام گرفت.

### نتایج

#### ویژگی‌های مقالات وارد شده در متآنالیز

پس از جستجوی اولیه در پایگاه‌های الکترونیکی پابمد/مدلاین و اسکوپوس، ۱۲۵ مقاله به‌دست آمد. یک مطالعه به‌دلیل بررسی فراوانی پلی مورفیسم ژن‌های *KIR* در افرادی که مبتلا به هر دو بیماری سلیاک<sup>۱۱</sup> (CD) و T1D بودند، حذف شد [۳۲]. همچنین، یک مطالعه‌ی دیگر به‌دلیل اینکه به زبان انگلیسی نوشته نشده بود، از مطالعه خارج شد [۳۳]. پس از بررسی کلیه‌ی معیارهای ورود و خروج، ۱۳ مطالعه مرتبط با ۲۲۸۵ بیمار و ۲۱۱۸ کنترل وارد مطالعه حاضر شدند. از میان این ۱۳ مطالعه، ۷ مطالعه در جمعیت اروپایی [۳۴-۳۸، ۲۷، ۱۳]، ۵

<sup>1</sup> Heterogeneity

<sup>2</sup> Cochran's Q test

<sup>3</sup> Random-effects model

<sup>4</sup> Fixed-effects model

<sup>5</sup> Funnel Plot

<sup>6</sup> Egger

<sup>7</sup> Begg's

<sup>8</sup> Asymmetry

<sup>9</sup> STATA

<sup>10</sup> Med Calc

<sup>11</sup> Coeliac disease

<sup>12</sup> Polymerase chain reaction

<sup>13</sup> Sequence-specific primer

<sup>14</sup> Sequence-specific oligonucleotide probe

جدول ۱- ویژگی های مطالعات وارد شده در این متاآنالیز

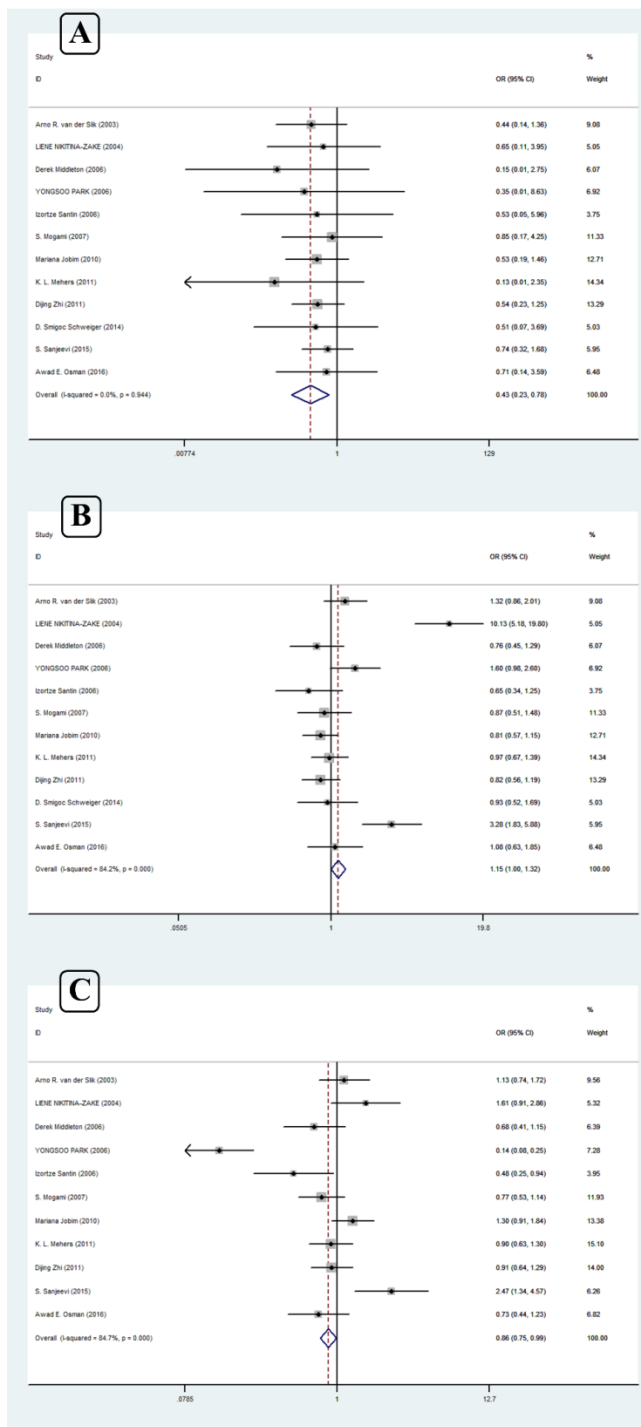
شماره مطالعه	نویسنده ی اول (رفرانس)	سال انتشار	نژاد / کشور	تکنیک تشخیصی	تعداد بیماران	تعداد کنترل ها	ژن های بررسی شده
۱	van der Slik <i>et al.</i> [13]	۲۰۰۳	هلند / قفقازی	PCR-SSOP	۱۴۹	۲۰۷	2DL1, 2DL2, 2DL3, 2DL5, 3DL1, 2DS1-5, 3DS1
۲	Nikitina-Zake <i>et al.</i> [35]	۲۰۰۴	لاتویا / قفقازی	PCR-SSP	۹۵	۹۸	2DL1-5, 3DL1-3, 2DS1-5, 3DS1
۳	Middleton <i>et al.</i> [27]	۲۰۰۶	انگلستان / قفقازی	PCR	۱۳۷	۱۰۱	2DL1-5, 3DL1-3, 2DS1-5,
۴	Park <i>et al.</i> [39]	۲۰۰۶	کره / آسیایی	PCR-SSP	۱۳۸	۱۳۲	2DL1-5, 3DL1-3, 3DS1, 2DS1-5
۵	Santin <i>et al.</i> [36]	۲۰۰۶	اسپانیا / قفقازی	PCR-SSP	۷۶	۷۱	2DL1, 2DL2, 2DL3, 2DL5, 2DS1-5, 3DL1, 3DS1, 3DP1, 2DP1
۶	Mogami <i>et al.</i> [1]	۲۰۰۷	ژاپن / آسیایی	PCR-SSP	۲۰۴	۲۴۰	2DL1-5, 2DS1-5, 3DL1-3, 3DS1
۷	van der Slik <i>et al.</i> [38]	۲۰۰۷	هلند / قفقازی	نامشخص	۲۷۵	۲۱۵	2DS1, 2DS2, 3DS1
۸	Jobim <i>et al.</i> [42]	۲۰۱۰	برزیل / قفقازی	PCR-SSP	۲۵۰	۲۴۸	2DL1-5, 3DL1-3, 2DS1-5, 2DS1-5, 3DS1, 2DP1
۹	Mehers <i>et al.</i> [37]	۲۰۱۱	انگلستان / قفقازی	PCR-SSP	۳۹۴	۱۶۸	2DL1, 2DL2, 2DL3, 2DL5, 3DL1, 3DL3, 2DS1-5, 3DS1
۱۰	Zhi <i>et al.</i> [7]	۲۰۱۱	چین / آسیایی	PCR-SSP	۲۵۹	۲۶۲	2DL1, 2DL2, 2DL3, 2DL5, 2DS1-5, 3DL1, 3DS1
۱۱	Smigoc Schweiger <i>et al.</i> [34]	۲۰۱۴	اسلونی / قفقازی	PCR-SSP	۶۷	۱۳۰	2DL1-4, 2DL5A, 2DL5B, 2DP1, 2DS1-5, 3DL1-3, 3DP1, 3DS1
۱۲	Sanjeevi <i>et al.</i> [40]	۲۰۱۵	هند / آسیایی	PCR-SSP	۱۳۵	۹۸	2DL1-5, 3DS1, 2DS1-5, 3DL1-3
۱۳	Osman <i>et al.</i> [41]	۲۰۱۶	عربستان / آسیایی	PCR-SSOP	۱۰۶	۱۴۸	2DL1-5, 2DS1-5, 3DL1-3, 3DS1, 2DP1, 3DP1

PCR; Polymerase chain reaction, PCR-SSP; Polymerase chain reaction- sequence specific primers, SSOP-PCR; sequence-specific oligonucleotide probes- polymerase chain reaction.

جدول ۲- نتایج متاآنالیز همراهی ژن های KIR و ریسک بروز T1D

ژن	تعداد مطالعه	بیماران / تعداد کل / تعداد مثبت	کنترل ها / تعداد کل / تعداد مثبت	P-value	OR ادغام شده (95% C.I)	آزمون ناهمگونی (I <sup>2</sup> % , P - value)	سوگیری انتشار (Begg's Test P-value; Egger's test P-value)	مدل
2DL1	۱۲	۱۹۳۳/۲۰۱۲	۱۸۶۶/۱۹۰۷	۰/۰۰۵	۰/۷۷۷ (۰/۲۳۳ - ۰/۷۷۷)	۰/۲۶۶ (۰/۰۰۰ - ۰/۷۷۷)	(P= 0.11; P= 0.20)	اثر ثابت
2DL2	۱۲	۹۶۶/۲۰۱۹	۸۴۳/۱۹۰۷	۰/۰۴۸	۱/۱۵۰ (۱/۰۰۱ - ۱/۳۲۳)	۱/۱۵۰ (۱/۰۰۱ - ۱/۳۲۳)	(P= 0.03; P= 0.11)	اثر تصادفی
2DL3	۱۲	۱۸۹۷/۲۰۱۲	۱۷۷۴/۱۹۰۷	۰/۷۴۶	۰/۶۰۵ (۰/۱۴۳ - ۰/۶۰۵)	۰/۹۳۱ (۰/۶۰۵ - ۰/۶۰۵)	P=0.84; P= 0.85)	اثر ثابت
2DL4	۸	۱۱۲۹/۱۱۳۴	۱۱۹۶/۱۱۹۹	۰/۴۵۳	۰/۲۳۵ (۰/۰۰۰ - ۰/۲۳۵)	۰/۶۶۹ (۰/۲۳۵ - ۰/۶۶۹)	(P= 0.27; P= 0.43)	اثر ثابت
2DL5	۱۱	۹۹۹/۱۹۴۵	۹۵۶/۱۷۷۷	۰/۰۳۳	۰/۷۵۳ (۰/۰۰۰ - ۰/۷۵۳)	۰/۸۶۳ (۰/۷۵۳ - ۰/۸۶۳)	(P= 0.53; P= 0.16)	اثر تصادفی
2DS1	۱۳	۹۵۹/۲۲۸۷	۸۷۳/۲۱۲۲	۰/۸۵۷	۰/۸۷۳ (۰/۱۲۰ - ۰/۸۷۳)	۰/۹۸۹ (۰/۸۷۳ - ۰/۹۸۹)	(P= 0.51; P= 0.40)	اثر تصادفی
2DS2	۱۳	۱۰۶۳/۲۲۸۷	۹۷۱/۲۱۲۲	۰/۷۸۴	۰/۸۶۱ (۰/۱۱۹ - ۰/۸۶۱)	۰/۹۸۲ (۰/۸۶۱ - ۰/۹۸۲)	(P= 0.85; P= 0.58)	اثر تصادفی
2DS3	۱۲	۵۲۸/۲۰۱۲	۵۱۱/۱۹۰۷	۰/۲۷۲	۰/۷۵ (۰/۰۰۰ - ۰/۷۵)	۰/۹۱۲ (۰/۷۵ - ۰/۹۱۲)	(P= 0.99; P= 0.82)	اثر ثابت
2DS4	۱۲	۱۷۸۱/۲۰۱۲	۱۶۲۳/۱۹۰۷	۰/۱۲۶	۰/۹۴۰ (۰/۱۶۳ - ۰/۹۴۰)	۱/۲۴۷ (۰/۹۴۰ - ۱/۲۴۷)	(P= 0.05; P= 0.08)	اثر تصادفی
2DS5	۱۲	۷۰۷/۲۰۱۲	۶۶۴/۱۹۰۷	۰/۸۰۴	۰/۸۵۷ (۰/۱۲۸ - ۰/۸۵۷)	۰/۹۸۳ (۰/۸۵۷ - ۰/۹۸۳)	(P= 0.63; P= 0.94)	اثر ثابت
3DL1	۱۲	۱۸۸۱/۲۰۱۲	۱۸۰۶/۱۹۰۷	۰/۵۸۴	۰/۷۰۶ (۰/۱۵۴ - ۰/۷۰۶)	۱/۱۴۴ (۰/۷۰۶ - ۱/۱۴۴)	(P= 0.002; P= 0.004)	اثر ثابت
3DL2	۸	۱۱۳۰/۱۱۳۴	۱۱۹۶/۱۱۹۹	۰/۸۳۹	۰/۳۲۵ (۰/۰۰۰ - ۰/۳۲۵)	۰/۹ (۰/۳۲۵ - ۰/۳۲۵)	(P= 0.90; P= 0.29)	اثر ثابت
3DL3	۹	۱۵۲۳/۱۵۲۸	۱۳۶۶/۱۳۶۷	۰/۹۴۵	۰/۳۶۰ (۰/۰۰۰ - ۰/۳۶۰)	۰/۹۶۶ (۰/۳۶۰ - ۰/۹۶۶)	(P= 0.99; P= 0.10)	اثر ثابت
3DS1	۱۳	۹۶۴/۲۲۷۷	۸۵۸/۲۱۲۲	۰/۵۵۳	۰/۹۱۷ (۰/۱۷۶ - ۰/۹۱۷)	۱/۰۳۸ (۰/۹۱۷ - ۱/۰۳۸)	(P= 0.67; P= 0.96)	اثر تصادفی
2DP1	۴	۴۹۲/۴۹۷	۵۹۴/۵۹۹	۰/۷۶۹	۰/۱۸۸ (۰/۰۰۰ - ۰/۱۸۸)	۰/۸۰۵ (۰/۱۸۸ - ۰/۸۰۵)	(P= 0.73; P= 0.98)	اثر ثابت
3DP1	۳	۲۴۸/۲۴۹	۳۴۹/۳۴۹	۰/۴۷۸	۰/۱۰۰ (۰/۰۰۰ - ۰/۱۰۰)	۰/۵۴۲ (۰/۱۰۰ - ۰/۵۴۲)	(P= 0.29; P= 0.38)	اثر ثابت

\*N implies to all the T1D cases evaluated for a specific KIR gene polymorphism \*n implies to a positive state for a specific KIR gene polymorphism



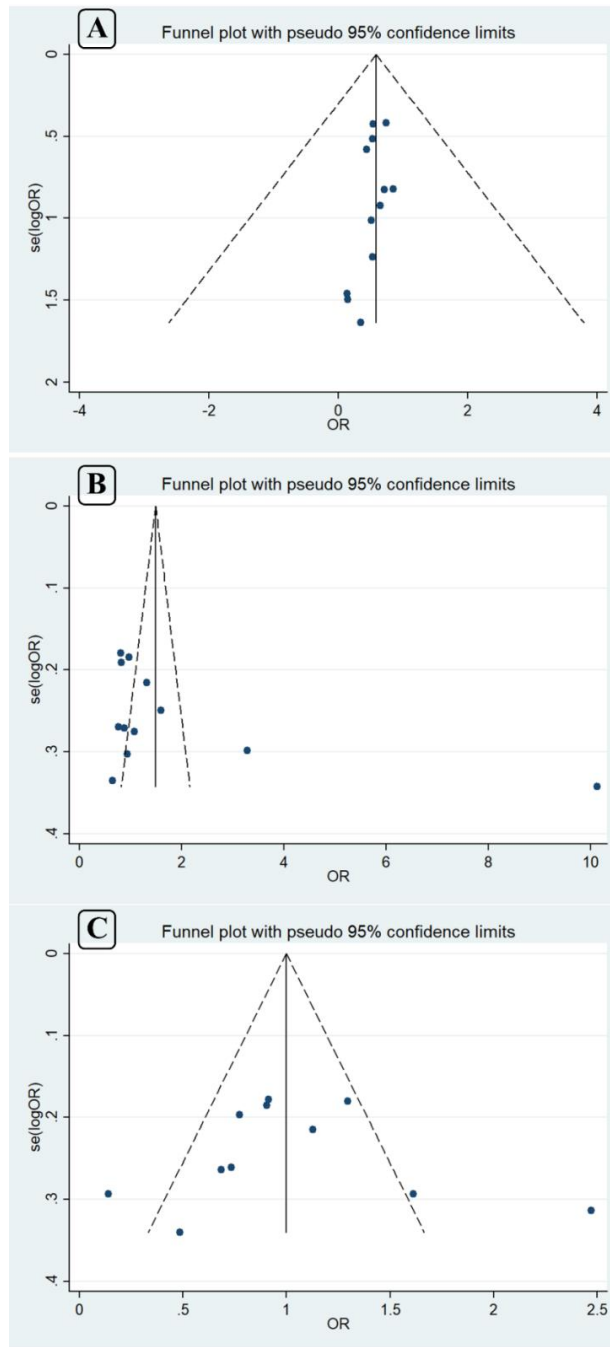
شکل ۲- نمودار جنگلی نتایج حاصل از OR ادغام شده برای ژن های A: *KIR2DL1*، B: *KIR2DL2*، و C: *KIR2DL5*

نتایج ناهمگونی معنی دار به صورت  $I^2 > 50\%$ ,  $P_{\text{Heterogeneity}} < 0.10$  در نظر گرفته شد. در این مطالعه ناهمگونی معنی داری بین مطالعات در پلی مورفیسم های  $2DL2$  ( $I^2 = 84.2\%$ ;  $< 0.001$ )

ارزیابی آزمون ناهمگونی و سوگیری مطالعه مواردی که بر روی ناهمگونی مطالعات وارد شده در یک متاآنالیز اثر می گذارند عبارتند از: تفاوت در طرح مطالعه، افراد مطالعه و پیامدها.

نتایج (جدول ۲). (Begg's Test, 0.002; Egger's test, 0.004) مربوط به *KIR2DL1*، *KIR2DL2* و *KIR2DL5* در جدول ۲ و شکل ۳ نشان داده شده است.

*2DL5* ( $I^2=84.7\%$ ;  $P<0.001$ ) و *2DS2* ( $74.4\%$ ;  $P<0.001$ )، مشاهده شد، در حالی که سایر پلی مورفیسم های ژن های *KIR* ناهمگونی را نشان ندادند. براساس آزمون های ایگر و بگ، سوگیری مطالعه در متآنالیز پلی مورفیسم *3DL1* مشاهده شد



شکل ۳- نمودار قیفی مربوط به نمایش سوگیری انتشارات و ناهمگونی برای ژن های *KIR2DL1*، *A*؛ *KIR2DL2*، *B*؛ و *KIR2DL5*، *C*

## بحث

اولین تحقیق در مورد ارتباط بین پلی مورفیسم ژنهای *KIR* و ریسک ابتلا به T1D در سال ۲۰۰۳ انجام شد [۱۳]. از آن زمان، چندین مقاله به شناسایی ارتباط بین پلی مورفیسم این ژن‌ها و خطر ابتلا به T1D پرداخته‌اند، اما نتایج بحث برانگیز بوده است. به‌منظور یکپارچه‌سازی نتایج متناقض حاصل از مطالعات قبلی، متآنالیز حاضر انجام شد. بنابراین، این متآنالیز برای ارزیابی مجدد و دقیق ارتباط بین تنوع آلی *KIR* و استعداد ابتلا به T1D انجام شد. به‌طور کلی، در این متآنالیز ۱۳ مطالعه که در کل شامل ۲۲۸۵ فرد مبتلا به T1D و ۲۱۱۸ کنترل بود، بررسی شدند.

با توجه به چندین دهه مطالعه و پژوهش، سازوکارهای اساسی و دقیق دخیل در پاتوژنز T1D هنوز ناشناخته‌اند. هر دو عامل ژنتیک و محیط در ابتلا به T1D مشارکت می‌کنند [۴۳]. درک کامل ایمونوژنتیک T1D می‌تواند یک عامل مهم در پیشگیری از این بیماری باشد. براساس مطالعات انجام شده، ایمنی ذاتی نقش مهمی در روند پاسخ‌های خودایمنی دارد [۴۴]. در همین رابطه سلول‌های NK، به‌عنوان سلول‌های ایمنی ذاتی، می‌توانند در دیابت اتوایمیون نقش داشته باشند [۴۵]. در مراحل ابتدایی پاتوژنز بیماری T1D، سلول‌های T اجرایی<sup>۱</sup> (Teff) در ایجاد و پیشرفت آن دخیل هستند، همچنین نشان داده شده است که سلول‌های NK در لوزالمعده بیماران، می‌توانند عوامل اصلی در ایجاد T1D باشند [۴۶]. به‌عنوان مثال، فعالیت افزایش یافته سلول‌های NK در افراد مبتلا به این بیماری گزارش شده است [۴۷].

گیرنده‌های مهاری بر سطح سلول‌های NK می‌توانند با مولکول‌های HLA-I در سطح سلول‌های مختلف میانکنش بدهند. به این ترتیب سلول‌های مذکور از حمله‌ی سلول‌های NK در امان می‌مانند. در T1D، به‌هم خوردن توازن ژن‌های *KIR* می‌تواند منجر به القای سیگنال‌های غیر طبیعی تحریکی یا مهاری در سلول‌های NK و T بشود، و بدین ترتیب با برهم خوردن

پایداری ایمنی، سلول‌های خود فرد مورد حمله سلول‌های NK قرار بگیرند [۴۸].

به‌نظر می‌رسد حضور برخی ژن‌های *HLA* نیز می‌تواند عامل خطر مهمی برای بروز T1D باشد. Nikitina-Zake و همکاران گزارش دادند که افراد دارای ژن‌های خطر *HLA* کلاس II و آل‌های *KIR2DL2* یا *2DS2*، ممکن است مستعد ابتلا به T1D باشند. علاوه بر این، افرادی که آل‌های ۵ یا ۵،۱ مربوط به ژن *MICA*<sup>۲</sup> را همراه با ژن‌های *2DL2* یا *2DS2* دارند، خطر افزایش یافته برای ابتلا به دیابت نشان می‌دهند [۳۵]. در مطالعه‌ی Jobim و همکاران، ترکیب پلی مورفیسمی *KIR2DL1-HLA-C2* یک عامل محافظ برای دیابت شناخته شد [۴۲]. همچنین نشان داده شد که کودکان مبتلا به T1D که از نظر *KIR2DS2* فعال کننده و *KIR2DL2* و *KIR2DL3* مهاری مثبت بودند، ژنوتیپ هموزیگوت *HLA-C1C1* را بیشتر بروز داده‌اند، و این ارتباط در کودکان مبتلا به T1D قبل از ۵ سال قوی‌تر بوده است [۳۴]. Zhi و همکاران در مطالعه‌ی خود نشان دادند که ترکیب‌های ژنی *KIR/HLA* از قبیل *2DL3+/HLA-C1+*، *2DL2-/HLA-C1+* و *2DL3+/HLA-C1+* با خطر ابتلا به دیابت ملیتوس ارتباط مثبت نشان داده‌اند [۷]. این مشاهدات بر نقش ترکیبی ژن‌های *KIR* و لیگاند *HLA* آنها در خطر ابتلا به T1D تأکید دارد.

نتایج مطالعه‌ی Van der Slik و همکاران نشان داد که ژن *KIR2DS2* می‌تواند در بروز T1D نقش داشته باشد [۱۳]. در مطالعه‌ی دیگری Park و همکاران اظهار داشتند که فراوانی ژن *KIR2DS2* تحریکی به‌طور معنی‌داری در بیماران T1D در مقایسه با گروه کنترل کاهش نشان می‌دهد [۴۹]. از طرف دیگر، تفاوت معنی‌داری در زمینه‌ی توزیع فراوانی ژن‌های *KIR* و حساسیت به T1D در مطالعات انجام شده در هلند [۱۳]، فنلاند [۲۷]، باسک [۳۶]، ژاپن [۱]، برزیل [۴۲]، چین [۷] و جمعیت سعودی [۴۱] گزارش نشده است. ناهمگونی مشاهده شده در این مطالعات ممکن است تا حدی به نقش برخی از عوامل، از جمله تنوع در

<sup>2</sup> MHC-I polypeptide-related gene A

<sup>1</sup> Effector T cell

در این مطالعه متآنالیز، حجم نمونه بالایی از بیماران و افراد سالم وارد مطالعه شده است اما محدودیت‌هایی نیز در انجام آن وجود داشته است. اول آنکه، به دلیل عدم وجود اطلاعات کافی از جمله برهمکنش‌های محیط-ژن/ژن-ژن، اثر زیرگروه‌های مختلف بالینی T1D، امکان تحلیل‌های بیشتر برای پیدا کردن سایر عوامل خطر ممکن نبود. دوم، به دلیل کم بودن تعداد مطالعات، تحلیل‌های زیر گروهی بر حسب نژاد ممکن نبود. سوم، تنها مطالعاتی که به زبان انگلیسی منتشر شده بودند، در این مطالعه وارد شدند. بنابراین، این متآنالیز می‌تواند در معرض سوگیری باشد. علی‌رغم محدودیت‌های ذکر شده، این مطالعه به بررسی پروفایل پلی مورفیسمی ژن‌های KIR در حساسیت ابتلا یا نقش محافظتی آن در بیماری T1D متمرکز شد.

### نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده، به نظر می‌آید که ژن‌های KIR می‌توانند به منظور دستیابی به تشخیص زود هنگام T1D، به عنوان بیومارکرهای عملکردی مورد استفاده قرار گیرند. بنابراین، با توجه به نتایج متفاوت مطالعات مختلف و تفاوت در روش‌های انجام مطالعات، ضرورت انجام مطالعات با تعداد نمونه بیشتر و با متدهای آزمایشگاهی با کیفیت‌تر، و نیز داشتن داده‌های دقیق‌تر و استاندارد شده تر برای دستیابی به نتایج معتبر احساس می‌شود.

ویژگی‌های جمعیت شناختی بین مطالعات مختلف، عوامل جغرافیایی، کیفیت هر مطالعه، طرح کلی تحقیق، روش‌های مختلف ژنوتایپینگ، تفاوت در معیارهای ورود به مطالعه برای انتخاب افراد کنترل، و تفاوت در توزیع ژن‌های KIR در بین جمعیت‌ها با زمینه‌های مختلف نژادی نسبت داده شود [۵۱، ۵۰]. سن شروع بیماری و جنسیت نیز با ابتلا به T1D ارتباط دارد، لذا انتخاب افراد کنترلی که از نظر سن و جنسیت با گروه بیماران همسان سازی شده باشند، در تجزیه و تحلیل‌های ژنتیکی مهم است [۷].

نتایج مطالعه‌ی متآنالیز حاضر نشان داد که پلی مورفیسم ژن‌های *2DL1*، *2DL2* و *2DL5* می‌تواند با استعداد ابتلا به T1D در ارتباط باشد. وجود هر دو ژن *2DL1* و *2DL5* با کاهش خطر T1D و وجود آلل *2DL2* با افزایش خطر ابتلا به T1D همراه بوده است. به نظر می‌آید که ترکیبات پلی مورفیسمی متفاوت ژن‌های KIR با تفاوت در عملکرد سلول‌های ایمنی و بروز بیماری T1D همراه هستند. در مطالعه‌ی متآنالیز دیگری که در رابطه با پلی مورفیسم ژن‌های KIR و بروز T1D بر روی ۲۰۷۶ بیمار و ۱۹۶۷ فرد سالم در سال ۲۰۱۷ انجام شده است، ارتباط معنی‌داری بین وجود آلل‌های *KIR2DL1* و *KIR2DS1* و عدم ابتلا به این بیماری گزارش شده است [۵۲]. تفاوت در نتایج به دست آمده در این مطالعه می‌تواند ناشی از تفاوت در مطالعات ورودی و خروجی و تفاوت در نوع و حجم نمونه آنالیز شده باشد.

### مآخذ

1. Mogami S, Hasegawa G, Nakayama I, Asano M, Hosoda H, Kadono M, et al. Killer cell immunoglobulin-like receptor genotypes in Japanese patients with type 1 diabetes. *Tissue Antigens* 2007; 70: 506-10.
2. Atkinson MA, Eisenbarth GS and Michels AW. Type 1 diabetes. *The Lancet* 2014; 383: 69-82.
3. Rewers M and Ludvigsson J. Environmental risk factors for type 1 diabetes. *Lancet* (London, England) 2016; 387: 2340-8.
4. French AR and Yokoyama WM. Natural killer cells and autoimmunity. *Arthritis research & therapy* 2004; 6: 8-14.
5. Qin H, Lee IF, Panagiotopoulos C, Wang X, Chu AD, Utz PJ, et al. Natural killer cells from children with type 1 diabetes have defects in NKG2D-

- dependent function and signaling. *Diabetes* 2011; 60: 857-66.
6. Wang R, Jaw JJ, Stutzman NC, Zou Z, Sun PD. Natural killer cell-produced IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  induce target cell cytolysis through up-regulation of ICAM-1. *Journal of leukocyte biology* 2012; 91: 299-309.
  7. Zhi D, Sun C, Sedimbi SK, Luo F, Shen S, Sanjeevi CB. Killer cell immunoglobulin-like receptor along with HLA-C ligand genes are associated with type 1 diabetes in Chinese Han population. *Diabetes Metab Res Rev* 2011; 27: 872-7.
  8. Liang HL, Ma SJ and Tan HZ. Association between killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR) polymorphisms and systemic lupus erythematosus (SLE) in populations: A PRISMA-compliant meta-analysis. *Medicine* (Baltimore) 2017; 96: e6166.
  9. Pende D, Falco M, Vitale M, Cantoni C, Vitale C, Munari E, et al. Killer Ig-Like Receptors (KIRs): Their Role in NK Cell Modulation and Developments Leading to Their Clinical Exploitation. *Frontiers in Immunology* 2019; 10.
  10. Gardiner CM. Killer cell immunoglobulin-like receptors on NK cells: the how, where and why. *International journal of immunogenetics* 2008; 35: 1-8.
  11. Sugioka DK, Gonçalves CEI and Bicalho MdG. KIR repertory in patients with hematopoietic diseases and healthy family members. *BMC hematology* 2016; 16: 25-.
  12. Ghanadi K, Shayanrad B, Ahmadi SAY, Shahsavar F, Eliasy H. Colorectal cancer and the KIR genes in the human genome: A meta-analysis. *Genomics data* 2016; 10: 118-26.
  13. Van der Slik AR, Koeleman BP, Verduijn W, Bruining GJ, Roep BO, Giphart MJ. KIR in type 1 diabetes: disparate distribution of activating and inhibitory natural killer cell receptors in patients versus HLA-matched control subjects. *Diabetes* 2003; 52: 2639-42.
  14. Hollenbach JA, Nosedal I, Ladner MB, Single RM, Trachtenberg EA. Killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR) gene content variation in the HGDP-CEPH populations. *Immunogenetics* 2012; 64: 719-37.
  15. Nelson GW, Martin MP, Gladman D, Wade J, Trowsdale J, Carrington M. Cutting edge: heterozygote advantage in autoimmune disease: hierarchy of protection/susceptibility conferred by HLA and killer Ig-like receptor combinations in psoriatic arthritis. *J Immunol* 2004; 173: 4273-6.
  16. Suzuki Y, Hamamoto Y, Ogasawara Y, Ishikawa K, Yoshikawa Y, Sasazuki T, et al. Genetic Polymorphisms of Killer Cell Immunoglobulin-Like Receptors Are Associated with Susceptibility to Psoriasis Vulgaris. *Journal of Investigative Dermatology* 2004; 122: 1133-6.
  17. Nazari M, Mahmoudi M, Rahmani F, Akhlaghi M, Beigy M, Azarian M, et al. Association of Killer Cell Immunoglobulin-Like Receptor Genes in Iranian Patients with Rheumatoid Arthritis. *PloS one* 2015; 10: e0143757-e.
  18. Momot T, Koch S, Hunzelmann N, Krieg T, Ulbricht K, Schmidt RE, et al. Association of killer cell immunoglobulin-like receptors with scleroderma. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 1561-5.
  19. Kitawaki J, Xu B, Ishihara H, Fukui M, Hasegawa G, Nakamura N, et al. Association of killer cell immunoglobulin-like receptor genotypes with susceptibility to endometriosis. *American journal of reproductive immunology* (New York, NY : 1989) 2007; 58: 481-6.
  20. Karlsen TH, Boberg KM, Olsson M, Sun JY, Senitzer D, Bergquist A, et al. Particular genetic variants of ligands for natural killer cell receptors may contribute to the HLA associated risk of primary sclerosing cholangitis. *J Hepatol* 2007; 46: 899-906.
  21. Martin MP, Qi Y, Gao X, Yamada E, Martin JN, Pereyra F, et al. Innate partnership of HLA-B and KIR3DL1 subtypes against HIV-1. *Nature genetics* 2007; 39: 733-40.
  22. Méndez A, Granda H, Meenagh A, Contreras S, Zavaleta R, Mendoza MF, et al. Study of KIR genes in tuberculosis patients. *Tissue Antigens* 2006; 68: 386-9.
  23. Verheyden S, Bernier M and Demanet C. Identification of natural killer cell receptor phenotypes associated with leukemia. *Leukemia* 2004; 18: 2002-7.
  24. Besson C, Roetyncq S, Williams F, Orsi L, Amiel C, Lependeven C, et al. Association of killer cell immunoglobulin-like receptor genes with Hodgkin's lymphoma in a familial study. *PLoS One* 2007; 2: e406.
  25. Hiby SE, Regan L, Lo W, Farrell L, Carrington M, Moffett A. Association of maternal killer-cell immunoglobulin-like receptors and parental HLA-C genotypes with recurrent miscarriage. *Hum Reprod* 2008; 23: 972-6.
  26. Yan WH, Lin A, Chen BG, Zhou MY, Dai MZ, Chen XJ, et al. Possible roles of KIR2DL4 expression on uNK cells in human pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 2007; 57: 2. 33-42
  27. Middleton D, Halfpenny I, Meenagh A, Williams F, Sivula J, Tuomilehto-Wolf E. Investigation of KIR Gene Frequencies in Type 1 Diabetes Mellitus. *Human Immunology* 2006; 67: 986-90.
  28. Shastry A, Sedimbi SK, Rajalingam R, Nikitina-Zake L, Rumba I, Wigzell H, et al. Combination of

- KIR 2DL2 and HLA-C1 (Asn80) confers susceptibility to type 1 diabetes in Latvians. *International Journal of Immunogenetics* 2008; 35: 439-46.
29. Stang A. Critical evaluation of the Newcastle-Ottawa scale for the assessment of the quality of nonrandomized studies in meta-analyses. *Eur J Epidemiol* 2010; 25: 603-5.
  30. Huedo-Medina TB, Sánchez-Meca J, Marín-Martínez F, Botella J. Assessing heterogeneity in meta-analysis: Q statistic or I2 index? *Psychol Methods* 2006; 11:193-206.
  31. Egger M, Davey Smith G, Schneider M, Minder C. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *BMJ* (Clinical research ed) 1997; 315: 629-34.
  32. Akar HH, Patiroglu T, Sevinc E, Aslan D, Okdemir D, Kurtoglu S. Contribution of KIR genes, HLA class I ligands, and KIR/HLA class I ligand combinations on the genetic predisposition to celiac disease and coexisting celiac disease and type 1 diabetes mellitus. *Rev Esp Enferm Dig* 2015; 107: 547-53.
  33. Tan YY, Lin J, Huang G, Tang WL, Sedimbi SK, Sanjeevi CB, et al. [Killer cell immunoglobulin-like receptor and its ligand gene polymorphisms in Hunan Han patients with type 1 diabetes]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2010; 90: 236-40.
  34. Smigoc Schweiger D, Mendez A, Kunilo Jamnik S, Bratanic N, Bratina N, Battelino T, et al. Genetic risk for co-occurrence of type 1 diabetes and celiac disease is modified by HLA-C and killer immunoglobulin-like receptors. *Tissue Antigens* 2014; 84: 471-8.
  35. Nikitina-Zake L, Rajalingham R, Rumba I, Sanjeevi CB. Killer cell immunoglobulin-like receptor genes in Latvian patients with type 1 diabetes mellitus and healthy controls. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1037: 161-9.
  36. Santin I, de Nanclares GP, Calvo B, Gaafar A, Castaño L, Bilbao JR. Killer Cell Immunoglobulin-Like Receptor (KIR) Genes in the Basque Population: Association Study of KIR Gene Contents With Type 1 Diabetes Mellitus. *Human Immunology* 2006; 67: 118-24.
  37. Mehers KL, Long AE, van der Slik AR, Aitken RJ, Nathwani V, Wong FS, et al. An increased frequency of NK cell receptor and HLA-C group 1 combinations in early-onset type 1 diabetes. *Diabetologia* 2011; 54: 3062-70.
  38. Van Der Slik AR, Alizadeh BZ, Koeleman BPC, Roep BO, Giphart MJ. Modelling KIR–HLA genotype disparities in type 1 diabetes. *Tissue Antigens* 2007; 69, 101-105
  39. Park Y, Choi H, Park H, Park S, Yoo EK, Kim D, et al. Predominance of the group A killer Ig-like receptor haplotypes in Korean patients with T1D. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1079: 240-50.
  40. Sanjeevi S, Sun C, Kanungo A, Sanjeevi CB. Killer immunoglobulin receptor genes and their HLA–C ligand are associated with Type 1 diabetes in an Eastern Indian population. *Diabetic Medicine* 2016; 33: 91-6.
  41. Osman AE, Eltayeb-Elsheikh N, Mubasher M, Al Harthi H, Alharbi S, Hamza MA, et al. Investigation of activating and inhibitory killer cell immunoglobulin-like receptors and their putative ligands in type 1 diabetes (T1D). *Human Immunology* 2016; 77: 110-4.
  42. Jobim M, Chagastelles P, Salim PH, Portela P, Wilson TJ, Curti AG, et al. Association of killer cell immunoglobulin-like receptors and human leukocyte antigen-C genotypes in South Brazilian with type 1 diabetes. *Hum Immunol* 2010; 71: 799-803.
  43. Atkinson MA and Eisenbarth GS. Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment. *Lancet* 2001; 358: 221-9.
  44. Waldner H. The role of innate immune responses in autoimmune disease development. *Autoimmunity reviews* 2009; 8: 400-4.
  45. Sun C, Sanjeevi S, Luo F, Zhi D, Sanjeevi CB. Interactions between maternal killer cell immunoglobulin receptor genes and foetal HLA ligand genes contribute to type 1 diabetes susceptibility in Han Chinese. *Int J Immunogenet* 2016; 43: 125-30.
  46. Dotta F, Censini S, van Halteren AG, Marselli L, Masini M, Dionisi S, et al. Cocksackie B4 virus infection of beta cells and natural killer cell insulinitis in recent-onset type 1 diabetic patients. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 5115-20.
  47. Liu SL, Zheng AJ and Ding L. Association between KIR gene polymorphisms and type 1 diabetes mellitus (T1DM) susceptibility: A PRISMA-compliant meta-analysis. *Medicine* (Baltimore) 2017; 96: e9439.
  48. McQueen KL and Parham P. Variable receptors controlling activation and inhibition of NK cells. *Current opinion in immunology* 2002; 14: 615-21.
  49. Park Y, Choi H, Park H, Park S, YOO EK, Kim D, et al. Predominance of the group A killer Ig- like receptor haplotypes in Korean patients with T1D. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2006; 1079: 240-50.
  50. Djulejic E, Petlichkovski A, Trajkov D, Hristomanova S, Middleton D, Spiroski M. Distribution of killer cell immunoglobulinlike receptors in the Macedonian population. *Human Immunology* 2010; 71: 281-8.
  51. Li X, Xia Q, Fan D, Cai G, Yang X, Wang L, et al. Association between KIR gene polymorphisms and

- rheumatoid arthritis susceptibility: A meta-analysis. *Human Immunology* 2015; 76: 565-70.
52. Liu S-L, Zheng AJ and Ding L. Association between KIR gene polymorphisms and type 1 diabetes mellitus (T1DM) susceptibility: A PRISMA-compliant meta-analysis. *Medicine* 2017; 96 :e9439-e.